

Rec'd PCT/PTO

18 JAN 2005

T/KR 03/00544

RO/KR 17.04.2003

10/521675

대한민국 특허청

KOREAN INTELLECTUAL
PROPERTY OFFICE

REC'D 02 MAY 2003

WIPO

PCT

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 : 10-2002-0041771
Application Number

CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT

출원년월일 : 2002년 07월 16일
Date of Application JUL 16, 2002

출원인 : 아이진 주식회사
Applicant(s) EYEGENE INC.

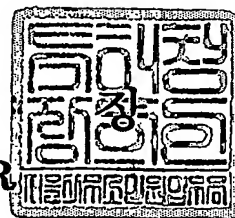
PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



2003 년 04 월 02 일

특 허 청

COMMISSIONER



BEST AVAILABLE COPY

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2002.07.16
【발명의 명칭】	당뇨망막증 진단용 단백질
【발명의 영문명칭】	Protein for Diagnosing Diabetic Retinopathy
【출원인】	
【명칭】	아이진 주식회사
【출원인코드】	1-2000-039131-4
【대리인】	
【성명】	이후동
【대리인코드】	9-1998-000649-0
【포괄위임등록번호】	2000-047348-7
【발명자】	
【성명의 국문표기】	유원일
【성명의 영문표기】	Y00,Won I I
【주민등록번호】	630613-1002514
【우편번호】	463-020
【주소】	경기도 성남시 분당구 수내동 36 양지마을 212-1005호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이성호
【성명의 영문표기】	LEE,Sung Ho
【주민등록번호】	660308-1001612
【우편번호】	412-745
【주소】	경기도 고양시 덕양구 화정동 옥빛마을 1403-1103
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	박건우
【성명의 영문표기】	PARK,Kune Wop
【주민등록번호】	741106-1122737

【우편번호】	608-090
【주소】	부산광역시 남구 용호동 C G 메트로시티 117-2201
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김성수
【성명의 영문표기】	KIM, Sung Soo
【주민등록번호】	720701-1005511
【우편번호】	156-863
【주소】	서울특별시 동작구 흑석2동 275-3 이화주택 105호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	조양제
【성명의 영문표기】	CHO, Yang Je
【주민등록번호】	680503-1051813
【우편번호】	140-070
【주소】	서울특별시 용산구 도원동 23 삼성래미안아파트 106동 20호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	안보영
【성명의 영문표기】	AHN, Bo Young
【주민등록번호】	720101-2036421
【우편번호】	120-132
【주소】	서울특별시 서대문구 북가좌2동 80-135 8/2
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	권오웅
【성명의 영문표기】	KWON, Oh Woong
【주민등록번호】	480301-1841014
【우편번호】	411-370
【주소】	경기도 고양시 일산구 강산마을 우성아파트 1906-1302
【국적】	KR
【핵산염기 및 아미노산 서열목록】	
【서열개수】	4

【서열목록의 전자파일】

【취지】

첨부

특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 다
리인
등 (인) 이후

【수수료】

【기본출원료】

20 면 29,000 원

【가산출원료】

0 면 0 원

【우선권주장료】

0 건 0 원

【심사청구료】

0 항 0 원

【합계】

29,000 원

【감면사유】

소기업 (70%감면)

【감면후 수수료】

8,700 원

【첨부서류】

1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】**【요약】**

본 발명은 당뇨병망막증 진단제에 관한 발명으로, 더욱 상세하게는 당뇨병망막을 진단할 수 있는 이미노글로브린 A (Immunoglobulin A) 단백질, 그 단백질의 항체를 포함하는 진단키트 및 진단방법에 관한 발명이다. 본 발명은 당뇨병망막증 진단 목적으로 사용할 수 있다.

【대표도】

도 3

【명세서】**【발명의 명칭】**

당뇨망막증 진단용 단백질{Protein for Diagnosing Diabetic Retinopathy}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 단백질체학에 적용하기 위한 안구 유리체 전처리과정을 도식화하여 나타낸 것.

도 2는 안구 유리체 단백질을 2차원 전기영동 후 CBB염색한 젤 사진을 나타낸 것이다. 화살표한 영역은 정상인 안구의 유리체에는 과량 존재하지만 당뇨망막증 안구의 유리체에는 그 양이 감소된 단백질을 보이고 있다.

도 3은 당뇨망막증 환자의 혈청단백질과 당뇨만 앓고 있는 환자의 혈청을 2차원 전기영동 후 CBB염색한 젤 사진을 나타낸 것이다. 화살표한 영역은 당뇨만 앓고 있는 환자에는 과량 존재하지만 당뇨망막증 환자의 혈청은 그 양이 감소된 단백질을 보이고 있다.

도 4는 Q-TOF 분석기를 이용하여 도 2의 화살표 영역의 단백질 중 트립신처리된 하나의 펩타이드의 아미노산 분석한 결과이다.

도 5는 이미노글로브린 A 표준액 0, 15.6, 31.25, 62.5, 125, 250, 500 ng/ml 농도와 ELISA 반응 후 흡광도 측정값과의 표준 적정 그래프이다. 이 그래프를 이용하여 미지의 이미노글로브린 A 양을 계산할 수 있다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<6> 본 발명은 당뇨병망막증 진단제에 관한 발명으로, 더욱 상세하게는 당뇨병망을 진단할 수 있는 이미노글로브린 A (Immunoglobulin A) 단백질, 그 단백질의 항체를 포함하는 진단키트 및 진단방법에 관한 발명이다.

<7> 일반적으로 당뇨병은 미세혈관계에 병변을 일으키는 복잡한 대사성 질환으로 눈을 포함한 전신조직에 광범위한 장애를 초래하며, 눈에 영향을 끼치는 전신질환 중 가장 중요한 질환이다(이태희, 최영길. 당뇨병성 혈관합병증, 서울:고려의학(1993)). 그 중 당뇨병망막증은 가장 심한 합병증에 속하며 생활 수준향상과 치료수준의 발전으로 당뇨병 환자의 수명과 유병기간이 길어짐에 따라 중요한 문제가 되어왔다(Klein R. *et al* , *Arch Ophthalmol*. 102:520-532(1984)). 당뇨병망막증은 혈관장애로 인한 망막의 병변이 망막내에 국한되어 있는 비증식성 당뇨병망막증과 망막에서부터 유리체강으로 신생혈관조직이 침투되어가는 증식성 당뇨병망막증으로 구분한다(Green , In : Spencer WH, ed. *Ophthalmic Pathology : an atlas and textbook*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunder; 1124-1129 (1996)). 당뇨병망막증의 진단은 안저에서 특징적인 구조변화를 관찰하여 이루어진다. 당뇨병망막증에 의한 시력손상은 증식성 당뇨병망막증에서의 유리체 출혈, 황반의 견인망막박리와 함께 황반변증 때문인데, 이에 대해서 수술치료와 함께 레이저치료 효용성이 잘 알려져 있다 (Diabetic Retinopathy Study Report Number 14: *Int Ophthalmol Clin*. 27:239-253(1987)). 이런 치료는 적절한단계에 시행함으로써 부작용을 최소화하면서 시력상실을 미리 막을 수 있다. 따라서 당뇨병망막증의 검사와 진단상의 노력은 수술치료를

해야 할 단계에 이미 도달했는지 등을 판단하기 위해서 자주 검사를 통해서 이루어져야 한다. 하지만 현재까지는 진단방법으로 안과에서 행해지는 안저촬영에 의한 검사만이 가능하다. 따라서 조기에 진단하기가 어렵고, 예방 및 수술시기를 놓치는 경우가 빈번하다. 따라서 본 발명에서는 혈액에서 쉽게 당뇨 망막증을 진단할 수 있는 방법을 고안했다. 현재 이와 같이 혈액을 통한 당뇨망막증을 진단법은 없으며 본 발명가들은 단백질체학을 이용하여 혈액내 변화가 있는 단백질을 찾아 진단에 응용하였다. 이 단백질은 당뇨만을 앓고 있는 환자와 당뇨합병증까지 앓는 환자에서 뚜렷한 양적 변화를 보임으로서 면역학적 방법에 의한 정확한 정량법을 이용하여 발명을 완성하게 되었다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

- <8> 본 발명은 상기한 문제점을 해결하고, 상기의 필요성에 의하여 안출된 것으로서, 본 발명의 목적은 당뇨망막증 진단제를 제공하는 것이다.
- <9> 본 발명의 다른 목적은 상기 진단제를 포함하는 당뇨망막증 진단용 키트를 제공하는 것이다.
- <10> 본 발명의 또다른 목적은 쉽고, 간단한 당뇨망막증 진단방법을 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

- <11> 상기한 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 당뇨망막증 진단에 효과적인 이미노글로브린 A 단백질과 그 단백질 절편을 제공한다.
- <12> 본 발명의 단백질 분석을 통해서 찾은 서열은 이미노글로브린A 헤비 체인의

컨스탄트(constant) 부위에 해당한다. 이미노글로브린A 단백질은 헤비 체인 및 라이트 체인이 존재하고 각각의 체인에는 가변부(variable region)이 있어 다양한 서열이 가능한 부위가 존재한다. 따라서 이미노글로브린A 단백질로 판명될 수 있는 서열을 갖는 단백질이 가능하다.

<13> 따라서 본 발명의 이미노글로브린A 단백질은 아래의 서열목록 1의 헤비체인의 서열 외에 다양한 서열이 가능하며, 서열목록 1의 헤비체인의 서열을 포함하는 Ig A 단백질이 더욱 바람직하다.

<14> 상기 Ig A의 H 체인의 서열은 서열목록 1에 기재된 바와 같다.

<15> 또한 본 발명에서 상기 이미노글로브린A의 단백질절편은 서열목록 2의 펩타이드를 포함한 여러 절편이 가능하다.

<16> 또 본 발명은 상기의 단백질에 결합하는 항체를 제공하고, 상기의 항체는 폴리클로날, 단일클로날 모두 바람직하나, 단일클로날항체가 더욱 바람직하다.

<17> 또 본 발명은 상기의 항체를 포함하는 당뇨망막증 진단용 키트를 제공한다.

<18> 본 발명의 키트는 퍼옥시데이즈, 알칼라인 포스파테이즈(alkaline phosphatase), 바이오틴(biotin)등으로 표지시킨 이미노글로브린 A 단백질을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 당뇨망막증 진단용 키트로 구성되어 진다.

<19> 본 발명에서 진단용키트에 사용되는 나머지 시약 등은 일반적인 진단용 키트에 사용되는 성분으로부터 쉽게 선택되어 질 수 있다.

<20> 또 본 발명은 상기의 항체에 유리체 또는 혈액 샘플 및 퍼옥시데이즈, 알칼라인 포스파테이즈, 바이오틴등으로 표지시킨 항 이미노글로브린 A 항체를 처리하는 단계; 및

상기의 복합체의 흡광도를 측정하여 정상보다 낮은 흡광도(ELISA 값)를 나타내는 경우에 당노 망막증임을 진단하는 방법을 제공한다.

<21> 또한 본 발명은 이미노글로브린 A 단백질을 코딩하는 서열목록 3의 이미노글로브린 A 유전자와 서열목록 2의 펩타이드를 코딩하는 서열목록 4의 뉴클레오타이드를 제공한다

<22> 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

<23> 본 발명은 당뇨망막증 환자의 안구내 유리체에서 이미노글로브린 A가 정상인 유리체에 비해 증가한다는 사실로부터 혈액내 이 단백질이 변화가 있음을 확인한 결과, 혈액 내에서는 당뇨병환자들에 비해 당뇨망막증환자에서 이미노글로브린 A 감소했음을 알게 되었고, 이를 이용 면역학적 방법으로 완성된 당뇨망막증 진단제에 관한 것이다.

<24> 상기한 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 우선 당뇨망막증에 특별히 변화가 있는 단백질군을 단백질체학(proteomics) 방법으로 분석하였다. 정상인과 당뇨망막증 환자 유리체의 변화를 단백질 종류와 양적인 변화를 분석하여 다음과 같은 신규한 현상을 발견하였고, 발견된 동일한 단백질 변화를 혈액내에서 확인한 후 당뇨망막증 진단에 적용하기 위한 적절한 면역학적 방법으로 진단키트를 제작하였다. : 첫째, 정상인을 대조군으로 하여 당뇨병환자, 당뇨망막증환자에서 안구내 유리체를 채취하여 2차원 젤 분리 및 이미징분석을 통해 정성 및 정량적 차이를 보이는 단백질군을 확보하고, 이들 단백질군의 정체를 알아보기 위해 MS 및 Q-TOF 분석기등으로 동정하였다. 변화가 관측되고 확인된 단백질은 이미노글로브린 A로 판명되었으며, 당뇨망막증환자의 유리체내에는 정상인 유리체에서 거의 거의 관찰되지 않는 이미노글로브린 A가 증가함이 관찰되었다. 당뇨망막증 유리체내에서 이미노글로브린 A가 증가된다는 보고는 아직없다. ; 둘째, 이런 정량적 변

화를 보이는 이 단백질은 혈액내에서의 양적 변화를 보였다. 당뇨병환자 혈액을 대조군으로 했을 경우 이미노글로브린 A는 당뇨망막증 환자 혈액내에서 감소하였다. 이런 결과 또한 아직 보고된 바 없다.; 셋째, 단백질의 존재 수치는 면역학적 방법을 통한 키트를 제작함으로써 사용이 용이하고 민감하면서 정확도가 높은 방법을 채택하였다.

<25> 이하, 비한정적인 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 구체적으로 설명한다.

<26> 실시예 1: 단백질체학 분석을 위한 안구 유리체 샘플처리

<27> 당뇨망막증은 당뇨가 장기간 지속되면서 발생하는 합병증 중에 하나이다. 이 질환은 불완전한 혈관구조를 갖는 신생혈관이 많이 생성되면서 안구내 유리체에 출혈을 일으키므로써 망막에 이상을 유발하게 되고 정도에 따라 시력저하 및 상실에 이른다. 본 발명에서는 정상 대조군과 당뇨망막증 환자 유리체의 단백질분석을 통해서 질환 유발 인자를 탐색과 더불어 질환 상태를 표현하는 단백질에 대한 정보를 얻어 진단의 목적을 이루었다. 단백질 분석은 최신기법인 단백질체학 방법을 사용하였다. 우선 단백질체학 방법에 적용하기 위해서 안구 유리체를 분석하기 용이하게 처리하였다. 유리체는 고분자당인 hyaluronic acid가 과량함유되어 있다. 그런데 이 당은 단백질을 분리시 상당히 악영향을 미치는 것으로 판명되었다. 따라서 이를 효과적으로 제거할 수 있는 방법을 고안하였다(도 1 참조). 이 방법은 4 ml의

유리체를 16ml의 증류수로 희석하여 1,000,000 cut off 막이 있는 튜브에 넣어 4℃에서 8,000rpm속도로 2시간 원심분리하고 이 과정을 3회 반복하여 1,000,000 이상되는 고분자당을 분자량의 차이를 이용하여 걸러냈다. 걸리지 않은 단백질은 10,000 cut-off 막이 있는 튜브에 넣어 4℃에서 4,000rpm속도로 원심분리하여 농축한 후 분석에 이용하였다. 고분자당을 제거하는 방법은 낮은 pH에서 분리가 잘되지 않았던 문제를 해결하므로써 매우 효과적인 분석을 가능케하였다.

<28> 실시예 2: 정상인과 당뇨병망막증환자의 안구내 유리체내 변화된 단백질군 조사

<29> 각각의 유리체에서 단백질을 추출하여 1mg/mL의 유리체내 단백질 농도로 농축하여 분석에 사용하였다. 과정은 우선 단백질을 2가지 다른 특성을 이용하는 단계적 분리법인 2차원적으로 분리시켰다. 첫 번째 과정은 단백질에 전기적 자극을 가하여 단백질 요소가 가진 pH에 따른 단백질 이동 (IEF, pH3-10), 두 번째 과정은 단백질이 가진 각각의 분자량에 따라 아크릴아마이드 겔(8~18%)상에서 단백질의 이동을 시행하였다. 1차원 전기이동(pH에 따른 단백질이동)은 겔당 50mA의 전류로 12시간동안 이동시킨 후, 2차원 전기이동(분자량에 따른 단백질이동)은 폴리아크릴아마이드 상에서 겔당 50mA로 6시간 전기 이동시켰다. 이렇게 이동된 단백질을 Coomassie Brilliant Blue-250 염색약 및 실버 스테이닝 방법으로 염색하여 존재를 확인한 후 정상인이 갖고 있는 단백질과 당뇨병망막증환자의 유리체내 단백질의 차이를 컴퓨터에서 이미지분석 소프트웨어 Phoretix (Nonlinear dynamics, UK)를 이용하여 분석하였다. 이 두 군사이의 단백질을 분석한 결과, 차이를 보이는 단백질군이 존재하였다(도 2, 도 3 참조).

- <30> 실시예 3: 당뇨병만 앓고 있는 환자의 혈청과 당뇨병망막증에서 다른양 존재하는 단백질의 동정
- <31> 양적 혹은 질적으로 차이를 보이는 단백질을 찾아 Q-TOF 분석기로 동정을 수행하여 단백질 종류를 알게 되었다(도 4 참조). 이를 통해 당뇨병망막증 혈액내에서 이미노글로브린 A가 양이 감소한다는 사실을 알게되었다.
- <32> 실시예 5: 효소면역학적분석법에 의한 당뇨병망막증 진단
- <33> 항 이미노글로브린 A 항체를 사용하여 샌드위치 효소면역학적분석법(ELISA)을 통하여 당뇨병환자 중 당뇨병망막증환자의 혈청을 식별할 수 있는지를 알아보기 위해 본 연구를 수행하였다. 병원으로부터 얻은 10명의 당뇨병망막증환자 혈청과 당뇨병망막증이 없는 당뇨병환자 대조군 10명의 혈청을 사용하였다. 먼저 EIA 96공 플레이트에 각 well 당 코팅버퍼(50 mM NaHCO₃, pH9.0)에 10ug/ml의 농도로 용해된 항 이미노글로브린 A (Koma, Korea)100ul(각 well당 1ug의 항체 단백질을 상온에서 1시간 반응시켜 코팅하고 400ul의 PBST로 2회 각각 10분간 세척한 후 1% BSA를 포함한 PBS로 후코팅시켰다. PBST 버퍼로 희석된 환자의 혈청을 100ul를 넣고 1시간동안 반응 후 PBS로 5회 세척하고 퍼옥시데이즈로 표지된 항 이미노글로브린 A 항체를 희석하여 100ul를 넣고 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 PBS로 3회 세척한 후 1mg/ml OPD(o-페닐렌디아민 다하이드로클로라이드) 및 0.03% H₂O₂가 함유된 0.1M 시트레이트-포스페이트 버퍼(pH4.9) 100ul을 넣어 실온에서 20-30분 반응시킨 후 3M 황산을 100ul을 넣어 반응을 정지시키고 효소면역학적

분석 리더(ELISA reader)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 흡광도는 표준 적정곡선을 통한 환산과 회석배율을 적용하여 혈액단위부피(ml)당 이미노글로브린 A의 양을 결정하였다 (도 5 참조). 이 결과를 표 1에 나타내었다. 당뇨병을 앓고 있는 환자의 혈청내 이미노글로브린 A의 측정값은 237 - 482 mg/dL이고 당뇨병망막증환자는 200mg/dL 이하는 40%, 200-235 mg/dL 은20%, 235 mg/dL 이상은 40%의 분포를 보였다. ELISA값 235 mg/dL 이하로 존재하는 경우를 당뇨병망막증 양성으로 판정한다면 약 60%의 진단율을 가진다고 할 수 있다.

<34> [표 1] ELISA를 통한 환자 혈청내 이미노글로브린 A와 반응성 연구 및 Ig A의 량 측정

<35>

번호	병명	Ig A (mg/dL)
1	당뇨환자	286
2	당뇨환자	237
3	당뇨환자	482
4	당뇨환자	236
5	당뇨환자	402
6	당뇨환자	341
7	당뇨환자	310
8	당뇨환자	261
9	당뇨환자	289
10	당뇨환자	336
11	중식성 당뇨병망막환자	192
12	중식성 당뇨병망막환자	167
13	중식성 당뇨병망막환자	296
14	중식성 당뇨병망막환자	191
15	중식성 당뇨병망막환자	348
16	중식성 당뇨병망막환자	300
17	중식성 당뇨병망막환자	217
18	중식성 당뇨병망막환자	299
19	중식성 당뇨병망막환자	149
20	중식성 당뇨병망막환자	201

【발명의 효과】

<36> 본 발명은 당뇨병의 합병증인 당뇨망막증을 쉽게 진단할 수 있는 기술이다. 현재까지 당뇨망막증 진단에 대한 상업적으로 판매되는 효율적인 진단제는 없다. 당뇨망막증에 대한 진단은 전적으로 병원에 내원하여 안과 의사의 검진에 의해서 이루어지고 있다. 따라서 당뇨병환자들이 자각증세로 시력의 이상을 느끼지 않고, 정기적인 안과검사를 받지 않은 상황에서는 조기 진단은 불가능하다. 이 진단제의 개발은 간단한 혈액검사를 통해 이루어지는 특징을 갖고 있으므로 안과검진 전에 미리 합병증이 발생되었는지를 확인할 수 있다는 점에서 매우 유용성이 크다. 특히 이 발명은 대량으로 검사가 가능한 96공을 이용한 ELISA방법을 채택함으로써 건강검진시 혹은 내과에 내원한 다수의 당뇨병환자를 대상으로 비용이 싸면서도 쉽고 간단히 처리할 수 있는 장점을 지닌다. 면역학적 방법이 사용되므로서 정확성과 정밀성등이 우수하다. 결론적으로 이 발명품은 당뇨망막증 진단에서 조기진단과 스크리닝에 유용성이 있으며, 잠재 및 초기 당뇨망막증 환자에게는 치료제 투여시기를 결정하는데 도움을 줄 수 있고 심한 당뇨망막증으로의 질환을 지연시킬 수 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

당뇨망막증 진단에 효과적인 이미노글로브린 A 단백질 또는 그 단백질 절편.

【청구항 2】

제 1 항에 있어서,

상기의 이미노글로브린 A 단백질은 서열목록 1에 기재된 헤비 체인 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 단백질.

【청구항 3】

제 1 항에 있어서,

상기의 단백질 절편은 서열목록 2에 기재된 펩타이드 서열을 포함하는 단백질 절편.

【청구항 4】

제 1 항의 단백질에 결합하는 항체.

【청구항 5】

제 4 항의 항체를 포함하는 당뇨망막증 진단용 키트.

【청구항 6】

제 5 항에 있어서,

상기의 키트는 퍼옥시데이즈, 알칼라인 포스파테이즈, 또는 바이오틴으로 표지시킨 이미노글로브린 A 단백질을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 당뇨망막증 진단용 키트.

【청구항 7】

a) 제 4 항의 항체에 혈액 샘플 및 퍼옥시데이즈, 알칼라인 포스파테이즈, 또는 바이오틴으로 표지시킨 이미노글로브린 A 단백질을 처리하는 단계; 및

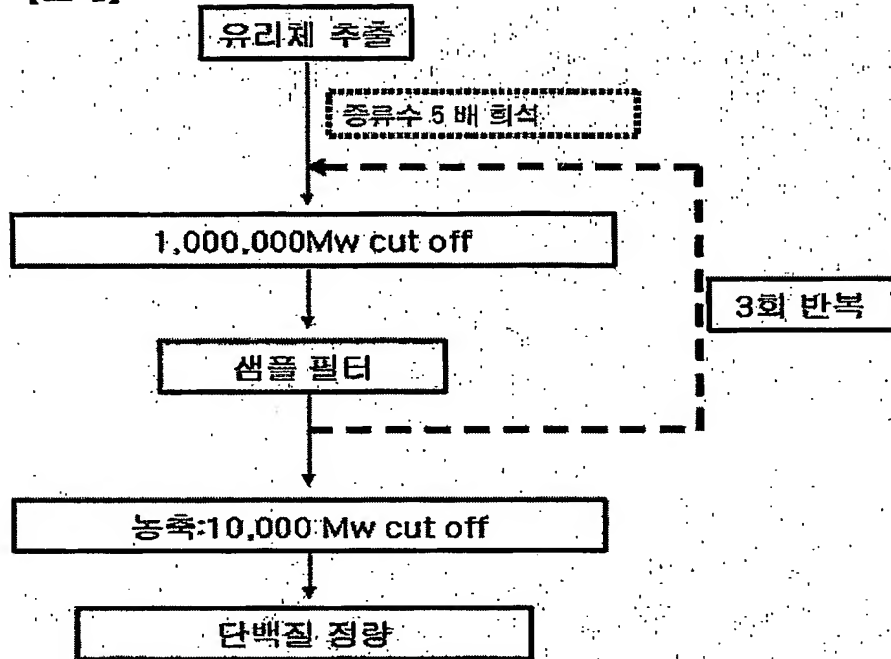
b) 상기의 복합체의 흡광도를 측정하여 정상보다 낮은 흡광도(ELISA 값)를 나타내는 경우에 당뇨 망막증임을 진단하는 방법.

【청구항 8】

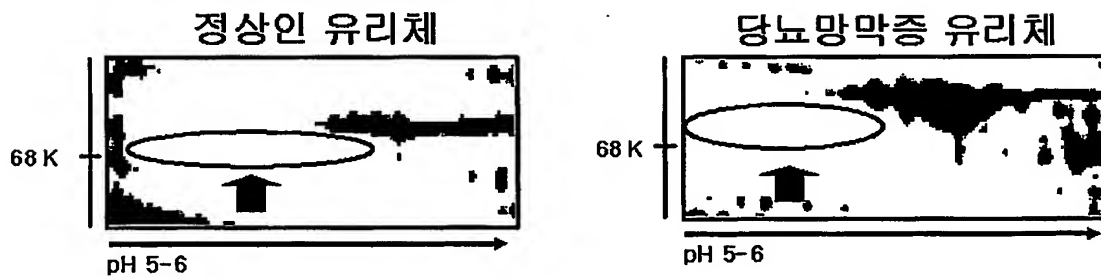
제 2 항의 단백질을 코딩하는 서열목록 3의 이미노글로브린 A 헤비 체인 유전자 및 서열목록 2의 펩타이드를 코딩하는 서열목록 4의 뉴클레오타이드.

【도면】

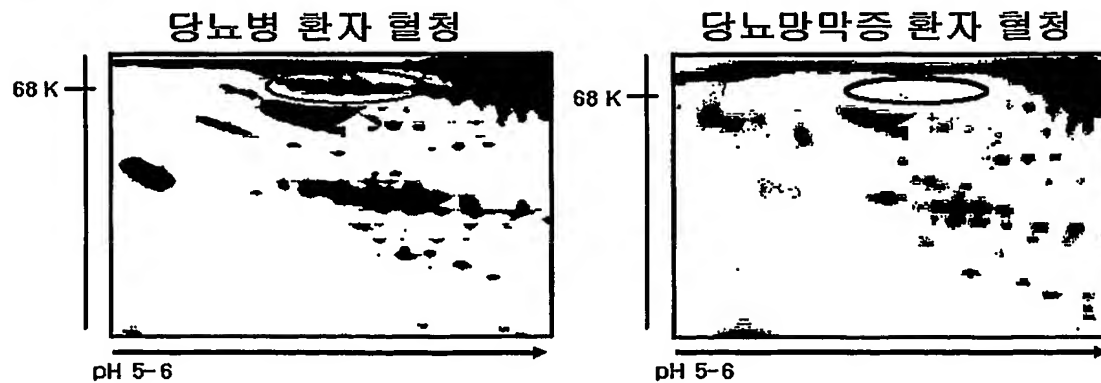
【도 1】



【도 2】



【도 3】



【도 4】

Q-TOF 분석결과

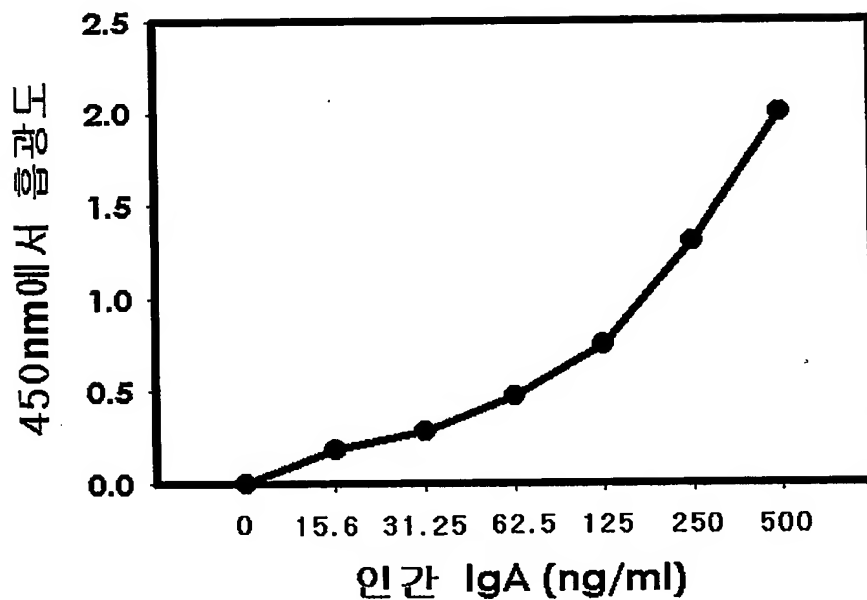
분석된 아미노산 서열: WSESGQGVTARNF

데이터베이스 조사 결과:

NCBI 가입 코드: P01876

Ig 알파-1 체인 C 지역 (Ig A c 지역) [호모 사피엔스]

【도 5】



【서열목록】

<110> EYEGENE Inc.; YOO, WON IL <120> Protein for Diagnosing Diabetic
 Retinopathy <130> 2002DPA085 <160> 4 <170> KopatentIn 1.71 <210> 1
 <211> 353 <212> PRT <213> Homo sapiens <400> 1 Ala Ser Pro Thr Ser Pro
 Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr 1 5 10
 15 Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe 20

25 30 Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly
 Val 35 40 45 Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro
 Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr 50 55 60
 Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly 65
 70 75 80 Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr
 Thr Asn Pro Ser Gln Asp 85 90 95
 Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro 100
 105 110 Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Cys Cys His Pro Arg Leu
 Ser 115 120 125 Leu His Arg Pro Ala Leu Glu
 Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn 130 135 140
 Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Val Thr Phe 145
 150 155 160 Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala
 Val Gln Gly Pro Pro Glu 165 170 175
 Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys 180
 185 190 Ala Glu Pro Trp Asn His Gly Lys Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala
 Tyr 195 200 205 Pro Glu Ser Lys Thr Pro Leu
 Thr Ala Thr Leu Ser Lys Ser Gly Asn 210 215 220
 Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu 225
 230 235 240 Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys
 Leu Ala Arg Gly Phe Ser 245 250 255
 Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro 260

265 270 Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro Ser Gln
 Gly 275 280 285 Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr
 Ser Ile Leu Arg Val Ala Ala Glu Asp 290 295 300
 Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu 305
 310 315 320 Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp
 Arg Leu Ala Gly Lys Pro 325 330 335
 Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys 340
 345 350 Tyr <210> 2 <211> 13 <212> PRT <213> Homo
 sapiens <400> 2 Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val Thr Ala Arg Asn Phe 1
 5 10 <210> 3 <211> 1059 <212> DNA <213>
 Homo sapiens <400> 3 gcaagcttga ccagcccaaa ggtcttcccg ctgagcctct gcagcaccca
 gccagatggg 60 aacgtgggtca tcgcctgcct ggtccagggc ttcttcccc aggagccact
 cagtgtgacc 120 tggagcgaaa gcggacaggc cgtgaccgcc agaaacttcc caccagcca
 ggatgcctcc 180 ggggacctgt acaccacgag cagccagctg accctgccgg ccacacagt
 ctagccggc 240 aagtccgtga catgccacgt gaagcactac acgaatcca gccaggatgt
 gactgtgccc 300 tgcccagttc cctcaactcc acctaccca tctccctcaa ctccacctac
 cccatctccc 360 tcatgtgcc acccccgact gtcactgcac cgaccggccc tcgaggacct
 gctcttaggt 420 tcagaagcga acctcacgtg cacactgacc ggctgagag atgcctcagg
 tgtcaccttc 480 acctggacgc cctcaagtgg gaagagcgct gttcaaggac cacctgaccg
 tgacctctgt 540 ggctgtctaca gcgtgtccag tgcctgtcg ggctgtgcc agccatggaa
 ccatgggaag 600 accttcactt gcactgctgc ctaccccgag tccaagacct cgctaaccgc

1020020041771

출력 일자: 2003/4/3

caccctctca 660 aaatccgga acacattccg gcccgaggtc cacctgctgc cgccgccgtc
ggaggagctg 720 gccctgaacg agctgggtgac gctgacgtgc ctggcacgtg gcttcagccc
caaggatgtg 780 ctggttcgct ggctgcaggg gtcacaggag ctgccccgcg agaagtacct
gacttgggca 840 tcccggcagg agcccagcca gggcaccacc accttcgtg tgaccagcat
actgcgcgtg 900 gcagccgagg actggaagaa gggggacacc ttctcctgca tgggtgggcca
cgaggccctg 960 ccgctggcct tcacacagaa gaccatcgac cgcttggcgg gtaaaccac
ccatgtcaat 1020 gtgtctgttg tcatggcgga ggtggacggc acctgctac

1059 <210> 4 <211> 41 <212> DNA <213> Homo sapiens <400> 4

tggagcgaaa gcggacaggg cgtgaccgcc agaaacttcc c 41